

## O B S A H

1. ÚVOD .....	8
2. SVĚTELNÝ MIKROSKOP A JEHO MODIFIKACE .....	9
2.1. Základní údaje .....	9
2.2. Základy optiky .....	9
2.3. Odraz a lom světla .....	10
2.4. Disperze (rozklad světla) .....	11
2.5. Interference světla .....	12
2.6. Čočka a jiná optická tělesa .....	12
2.6.1. Čočky .....	12
2.6.2. Hranoly .....	12
2.7. Geometrie zobrazování spojnou čočkou .....	13
2.8. Hlavní vady čoček .....	13
2.8.1. Vada barevná - chromatická .....	13
2.8.2. Vada kulová - sférická .....	14
2.8.3. Vada astigmatická .....	14
2.8.4. Vyklenutí zorného pole .....	14
2.8.5. Koma .....	14
2.8.6. Distorze .....	14
2.9. Lupy .....	14
2.10. Složený mikroskop (optický refrakční mikroskop) .....	15
2.10.1. Základní údaje .....	15
2.10.2. Konstrukce složeného mikroskopu .....	15
2.10.2.1. Optické prvky mikroskopu .....	16
2.10.2.2. Osvětlovací zařízení .....	21
2.10.2.3. Mechanické části mikroskopu .....	21
2.10.3. Práce s mikroskopem .....	22
2.10.3.1. Světelný zdroj .....	22
2.10.3.2. Pokyny pro provoz mikroskopu .....	23
2.10.3.3. Pozorování imerzními systémy .....	24
2.10.3.4. Udržování a čištění mikroskopu .....	25
2.10.3.5. Závady a jejich odstranění .....	26
2.11. Speciální metody mikroskopování .....	28
2.11.1. Preparační mikroskop (stereomikroskop) .....	29
2.11.2. Cestovní mikroskop .....	30
2.11.3. Srovnávací mikroskop .....	30
2.11.4. Diskusní mikroskop .....	31
2.11.5. Inverzní mikroskop .....	31

2.11.6. Demonstrační a projekční mikroskop .....	31
2.11.7. Mikroskop pro televizní vysílání obrazu .....	31
2.11.8. Laserový mikroskop .....	31
2.11.9. Polarizační mikroskop .....	32
2.11.10. Fázový kontrast .....	34
2.11.11. Interferenční mikroskopie .....	37
2.11.12. Zástinová mikroskopie .....	38
2.11.13. Ultramikroskopie .....	41
2.11.14. Pozorování v ultrafialovém světle .....	42
2.11.15. Fluorescenční (luminiscenční) mikroskopie ...	43
2.11.16. Mikroskopie v infračerveném (IČ) světle .....	45
3. ZOBRAZOVÁNÍ MIKROSKOPICKÝCH OBJEKTŮ .....	45
3.1. Kreslení mikroskopických objektů .....	45
3.1.1. Kreslení z volné ruky .....	46
3.1.2. Kreslicí přístroje .....	46
3.1.2.1. Projekční zrcátko .....	46
3.1.2.2. Abbéův kreslicí přístroj a jeho modifikace ..	47
3.1.2.3. Oberhauserův kreslicí okulár .....	48
3.1.2.4. Kreslení na projekčním mikroskopu .....	48
3.1.2.5. Kreslení obrazu promítaného na papír optikou mikroskopu nebo mikroprojektorem .....	48
3.2. Mikrofotografie .....	49
3.3. Mikrokinematografie .....	50
3.4. Videozáznamy .....	51
4. MIKROURGICKÁ DOVYBAVENÍ MIKROSKOPU .....	51
4.1. Mikromanipulátory .....	51
4.1.1. Šroubové mikromanipulátory (Péterfiho) .....	51
4.1.2. Mikromanipulátory pákové .....	52
4.1.3. Mikromanipulátory klouzavé .....	52
4.1.4. Mikromanipulátory pneumatické .....	52
4.2. Mikrourgické nástroje .....	52
4.3. Pracovní postup při mikrurgii .....	52
5. PLASTICKÁ REKONSTRUKCE MIKROSKOPICKÝCH OBJEKTŮ .....	53
5.1. Mikroreliéfové a adhezivní preparáty používané ke studiu povrchu mikroskopických objektů .....	53

6.	MĚŘENÍ MIKROSKOPICKÝCH OBJEKTŮ .....	54
6.1.	Okulárový mikrometr (měřicí okulár) .....	54
6.2.	Objektivní mikrometr .....	55
6.3.	Jiné způsoby měření .....	55
6.4.	Měření hloubky objektů .....	56
7.	POČÍTÁNÍ MIKROSKOPICKÝCH OBJEKTŮ .....	56
8.	PŘÍPRAVA MIKROSKOPICKÝCH PREPARÁTŮ .....	58
8.1.	Nativní (čerstvé) preparáty .....	58
8.1.1.	Vitální barvení .....	59
8.1.2.	Preparáty povrchů mikroskopických objektů .....	60
8.2.	Příprava trvalých preparátů .....	61
8.2.1.	Fixace .....	61
8.2.2.	Základní fixační prostředky .....	61
8.2.3.	Fixační směsi .....	65
8.2.3.1.	Fixační směsi s etanolem .....	65
8.2.3.2.	Fixační směsi se sublimátem .....	65
8.2.3.3.	Fixační směsi s kyselinou pikrovou .....	66
8.2.3.4.	Fixační směsi s kyselinou chromovou .....	66
8.2.3.5.	Fixační směsi s chloroformem .....	67
8.2.3.6.	Fixační směsi s kyselinou osmičelou .....	67
8.2.4.	Odvápňování .....	71
8.2.5.	Výbrusy .....	72
8.2.6.	Trvalé preparáty podle způsobu zpracování .....	73
8.2.6.1.	Celkové preparáty a jejich uzavírací média ..	73
8.2.6.2.	Preparáty volných buněk .....	77
8.2.6.2.1.	Roztěrové a otiskové preparáty .....	77
8.2.6.2.2.	Roztlakové preparáty .....	78
8.2.6.2.3.	Základní hematologické metody .....	79
8.2.6.3.	Řezové preparáty .....	81
8.2.6.3.1.	Zalévání do parafinu (paraplastu) .....	81
8.2.6.3.2.	Zalévání do celoidinu .....	86
8.2.6.3.3.	Zalévání do celoidin-parafinu .....	89
8.2.6.3.4.	Zalévání do prostředí (médií) rozpuštěných ve vodě .....	90
8.2.6.3.5.	Řezání tkáňových bločků .....	92
8.2.7.	Barvení trvalých preparátů .....	100
8.2.8.	Molekulární struktura barviv .....	101
8.2.8.1.	Rozdělení barviv podle chromoforů .....	101
8.2.8.2.	Rozdělení barviv podle auxochromů .....	102

8.2.9. Způsoby barvení .....	102
8.2.10. Přirozená barviva .....	103
8.2.10.1. Barviva karmínová.....	103
8.2.10.2. Barviva hematoxylinová .....	103
8.2.11. Umělá barviva .....	105
8.2.11.1. Nitroso barviva .....	105
8.2.11.2. Nitro barviva .....	105
8.2.11.3. Azobarviva .....	105
8.2.11.4. Cyaninová barviva .....	106
8.2.11.5. Arylmetanová barviva .....	106
8.2.11.6. Xantenová barviva .....	107
8.2.11.7. Akridinová barviva .....	107
8.2.11.8. Azinová barviva .....	107
8.2.11.9. Oxazinová barviva .....	107
8.2.11.10. Thiazinová barviva .....	108
8.2.11.11. Antrachinonová barviva .....	108
8.2.11.12. Ftalocyaninová barviva .....	108
8.2.12. Na závěr o barvivech .....	108
8.2.13. Jiné způsoby zvýrazňování struktur .....	109
9. PŘÍKLADY METOD POUŽÍVANÝCH K BARVENÍ TOTÁLNÍCH, ROZTĚROVÝCH, OTISKOVÝCH A ŘEZOVÝCH PREPARÁTŮ .....	110
9.1. Gramova metoda (příklad regresivního barvení) .....	110
9.1.1. Postup při barvení suchých roztěrů .....	110
9.1.2. Barvení řezů (Gram-Weigertova metoda) .....	111
9.2. Barvení roztěrů eosinátem metylénové modře podle Maye-Grünwalda .....	112
9.3. Barvení eosináty metylénového azuru, violeti a modři. podle Giemsy (-Romanowského) .....	113
9.4. Panoptické barvení podle Pappenheima (kombinace metod podle Maye-Grünwalda a Giemsy) .....	114
9.5. Solný karmín podle Schuberga .....	114
9.6. Boraxový karmín podle Grenachera .....	115
9.7. Kamencový karmín podle Mayera .....	115
9.8. Harrisův hematoxylin .....	116
9.9. Ehrlichův kyselý hematoxylin .....	117
9.10. Mayerův kyselý hematoxylin - hemalaun .....	118
9.11. Heidenhainův železitý hematoxylin .....	118
9.12. Oranž-eosin-toluidinová modř podle Dominiciho (příklad sukcesního barvení) .....	119

9.13. Mannova rychlá barvicí metoda pro přehledné histologické řezové preparáty .....	120
9.14. Trichromatické barvení podle Malloryho .....	121
9.15. Trichromatické barvení podle Massona .....	122
9.16. Weigert van Giesonovo barvení .....	123
9.17. Barvení azanem .....	124
<b>10. PŘÍKLADY SPECIÁLNÍCH METOD POUŽÍVANÝCH KE STUDIU BUNĚČNÝCH ORGANOIDŮ .....</b>	<b>127</b>
10.1. Buněčné jádro .....	127
10.2. Průkaz mitochondrií .....	128
10.3. Průkaz Golgiho aparátu .....	128
<b>11. PŘÍKLADY HISTOCHEMICKÝCH METOD .....</b>	<b>129</b>
11.1. Histochemické stanovení nukleových kyselin a nukleoproteinů .....	129
11.2. Histochemické stanovení bílkovin .....	134
11.3. Histochemické stanovení látek cukerných .....	136
11.4. Histochemické stanovení tuků .....	146

#### PRAKTICKÁ CVIČENÍ

Cvičení I.: Příprava nativních preparátů, vitální barvení.	151
Cvičení II.: Příprava celkových preparátů - 1 .....	152
Cvičení III.: Příprava celkových preparátů - 2 .....	152
Cvičení IV.: Barvení celkových preparátů .....	153
Cvičení V.: Zhotovení krevního nátěru, barvení .....	155
Cvičení VI.: Zhotovení řezových preparátů .....	156
Cvičení VII.: Barvení parafinových řezů - HE, Mallory ...	157
Cvičení VIII.: Příklad cytologické a cytochemické reakce ..	158
Cvičení IX.: Důkaz polysacharidů .....	159
Cvičení X.: Dokončení a popisování preparátů .....	160
Cvičení XI.: Pozorování neprůhledných objektů - mikroreliefová metoda (otisky) .....	161
Cvičení XII.: Projasňování rostlinného materiálu .....	162
Cvičení XIII.: Rychlá cytologická metoda .....	162
<b>SEZNAM POUŽITÉ A DOPORUČENÉ LITERATURY .....</b>	<b>164</b>
<b>OBRAZOVÉ PŘÍLOHY .....</b>	<b>166</b>